

Determining allergen activity in dusts

Publication number: JP2003502641T

Publication date: 2003-01-21

Inventor:

Applicant:

Classification:

- international: **G01N31/00; C12M1/34; C12Q1/37; G01N1/04; G01N21/78; G01N31/22; G01N33/52; G01N33/68; G01N31/00; C12M1/34; C12Q1/37; G01N1/04; G01N21/77; G01N31/22; G01N33/52; G01N33/68; (IPC1-7): G01N21/78; C12M1/34; C12Q1/37; G01N1/04; G01N31/00; G01N33/52; G01N33/68**

- European: **G01N31/22; G01N33/52; G01N33/68A2B**

Application number: JP20010503523T 20000609

Priority number(s): GB19990013487 19990611; WO2000GB02100 20000609

Also published as:



WO0077516 (A1)
EP1190245 (A1)
US7195922 (B1)
US2006228760 (A1)
GB2351560 (A)

more >>

Report a data error here

Abstract not available for JP2003502641T

Abstract of corresponding document: **GB2351560**

Allergen activity in dust is obtained by extracting from a dust sample at least one breakdown component of proteins or peptides; reacting the extracted at least one breakdown component with typically a colorimetric amine detection reagent such as TNBSA; and quantitatively measuring the intensity of any resulting coloration. Allergen activity is gauged by the intensity of coloration. Further, claimed are kits for obtaining the activity. Also claimed is a method for determining the activity using a protease substrate with immobilised proteins or peptides thereon labelled with a chromogenic compound. Utility is in obtaining allergen activity of house dust mites.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号
特表2003-502641
(P2003-502641A)

(43) 公表日 平成15年1月21日 (2003.1.21)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テームコード* (参考)
G 0 1 N 21/78		G 0 1 N 21/78	Z 2 G 0 4 2
C 1 2 M 1/34		C 1 2 M 1/34	E 2 G 0 4 5
C 1 2 Q 1/37		C 1 2 Q 1/37	2 G 0 5 2
G 0 1 N 1/04		G 0 1 N 1/04	H 2 G 0 5 4
31/00		31/00	V 4 B 0 2 9
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 28 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願2001-503523(P2001-503523)
(86) (22) 出願日 平成12年6月9日 (2000.6.9)
(85) 翻訳文提出日 平成13年11月29日 (2001.11.29)
(86) 国際出願番号 PCT/GB00/02100
(87) 国際公開番号 WO00/077516
(87) 国際公開日 平成12年12月21日 (2000.12.21)
(31) 優先権主張番号 9913487.6
(32) 優先日 平成11年6月11日 (1999.6.11)
(33) 優先権主張国 イギリス (GB)

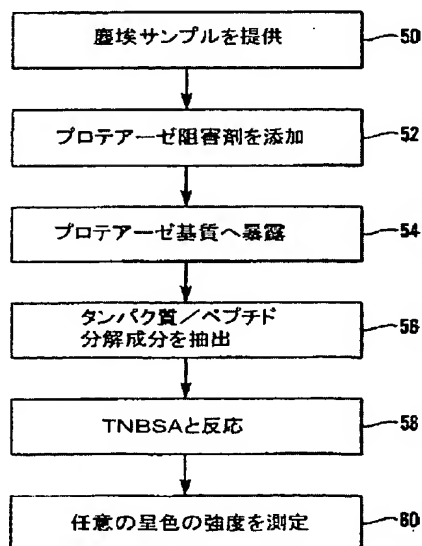
(71) 出願人 アカリス ヘルスケア ソリューションズ
ビーエルシー
ACARIS HEALTHCARE S
OLUTIONS PLC
イギリス国 CB1 2RE ケンブリッ
ジ ステーション ロード ダイダロス
ハウス
(72) 発明者 ビルザッド、ラミン
イギリス国 PE21 3NL ケンブリッ
ジシャー セント アイベス ナーサリー
ガーデンズ 40
(74) 代理人 弁理士 恩田 博宣 (外1名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アレルゲンの検出

(57) 【要約】

塵埃中のアレルゲン活性を測定する方法は、塵埃サンプルを提供する工程と；塵埃サンプルからタンパク質又はペプチドの少なくとも1つの分解成分を抽出する工程と；抽出された少なくとも1つの分解成分をTNBSA等の比色定量アミン検出試薬と反応させる工程と；生じた任意の呈色の強度を定量的に測定する工程とから成る。アレルゲン活性は呈色の強度によって評価され得る。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 塵埃中のアレルギー活性を測定する方法であって、
塵埃サンプルを提供する工程と、
塵埃サンプルからタンパク質又はペプチドの少なくとも1つの分解成分を抽出する工程と、

抽出された少なくとも1つの分解成分を比色定量アミン検出試薬と反応させる工程と、

生じた任意の呈色の強度を定量的に測定する工程であって、アレルギー活性は呈色の強度と比例している工程と、から成る方法。

【請求項2】 塵埃サンプルをプロテアーゼ基質に曝す工程をさらに含み、前記プロテアーゼ基質の上にはタンパク質又はペプチドが固定され、前記タンパク質又はペプチドに対して塵埃サンプル中のプロテアーゼが作用する、請求項1に記載の方法。

【請求項3】 特定のプロテアーゼの活性を抑えるためにプロテアーゼ基質への暴露に先立って塵埃サンプルにプロテアーゼ阻害剤を加える工程をさらに含む、請求項2に記載の方法。

【請求項4】 プロテアーゼ基質はプロテアーゼ特異的であり、特定のプロテアーゼのみが基質上に固定されたタンパク質又はペプチドに作用し得る、請求項2に記載の方法。

【請求項5】 プロテアーゼ基質は、プロテアーゼ基質上に固定されたタンパク質又はペプチドの可動な分解成分の抽出を促進するためのフィルタを備える、請求項2、3又は4に記載の方法。

【請求項6】 塵埃サンプルから抽出された分解成分が、塵埃サンプル中に存在するアミン、アミノ酸又はペプチドを含む、請求項1乃至5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項7】 比色定量アミン検出試薬が2, 4, 6-トリニトロベンゼンスルホン酸（以下、TNBSAと称する）である、請求項1乃至6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項8】 少なくとも1つの分解成分が、塵埃サンプルを界面活性剤と接

触させることにより抽出される、請求項1乃至7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項9】任意の塵埃サンプル固形残留物を、比色定量アミン検出試薬との反応に先立って、界面活性剤から分離する工程をさらに含む、請求項8に記載の方法。

【請求項10】界面活性剤は硫酸ドデシルナトリウムを含む水溶液である、請求項8又は9に記載の方法。

【請求項11】水溶液はアルカリである、請求項10に記載の方法。

【請求項12】水溶液はさらに炭酸水素ナトリウムを含む、請求項10又は11に記載の方法。

【請求項13】生じた任意の呈色の強度を、少なくとも1つの基準色との比較によって定量的に測定する、請求項1乃至12のいずれか一項に記載の方法。

【請求項14】少なくとも3つの異なる種類のアレルゲン活性を示すために、異なる複数の色基準が選択される、請求項13に記載の方法。

【請求項15】反応混合物を、予め選択したインキュベーション時間の後で停止試薬を使用することにより、保存する工程をさらに含む、請求項1乃至14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項16】塵埃中のアレルゲン活性を測定する方法であって、
塵埃サンプルを提供する工程と、

プロテアーゼ基質を提供する工程であって、該プロテアーゼ基質の上には色原体物質で標識されたタンパク質又はペプチドが固定されている工程と、

塵埃サンプル中の任意のプロテアーゼが固定化タンパク質又はペプチドに作用して色原体物質で標識された可動な分解成分を生成する条件下で、プロテアーゼ基質を塵埃サンプルに暴露する工程と、

生じた任意の呈色の強度を定量的に測定する工程であって、アレルゲン活性は呈色の強度と比例している工程と、から成る方法。

【請求項17】特定のプロテアーゼの活性を抑えるためにプロテアーゼ基質への暴露に先立って塵埃サンプルにプロテアーゼ阻害剤を加える工程をさらに含む、請求項16に記載の方法。

【請求項18】プロテアーゼ基質がプロテアーゼ特異的であり、特定のプロ

テアーゼのみが基質上に固定されたタンパク質又はペプチドに作用し得る、請求項16に記載の方法。

【請求項19】プロテアーゼ基質は、プロテアーゼ基質上に固定されたタンパク質又はペプチドの可動な分解成分の抽出を促進するためのフィルタを備える、請求項16、17又は18に記載の方法。

【請求項20】生じた任意の呈色の強度は、少なくとも1つの基準色との比較によって定量的に測定される、請求項16乃至19のいずれか一項に記載の方法。

【請求項21】塵埃中のアレルゲン活性を測定する方法であって、
塵埃サンプルを提供する工程と、
塵埃サンプルから、脂肪族アミン及び脂肪族アミノ酸から成る群より選択された少なくとも1つの成分を抽出する工程と、
抽出された少なくとも1つの成分の相対濃度を測定する工程と、
測定した相対濃度に依存してアレルゲン活性の指標を提供する工程と、から成る方法。

【請求項22】相対濃度は脂肪族のアミンと脂肪族アミノ酸に感受性のある呈色指示薬の使用により測定される、請求項21に記載の方法。

【請求項23】呈色指示薬はTNBSAである、請求項22に記載の方法。

【請求項24】塵埃中のアレルゲン生成傾向を測定する方法であって、
塵埃サンプルを提供する工程と、
ヒト皮膚細胞のタンパク質又はペプチドを分解可能なプロテアーゼに、塵埃サンプルを暴露する工程と、
比色定量アミン検出試薬と暴露した塵埃サンプルを反応させる工程と、
生じた任意の呈色の強度を定量的に測定する工程であって、アレルゲン活性は呈色の強度と比例している工程と、から成る方法。

【請求項25】比色定量アミン検出試薬は2, 4, 6-トリニトロベンゼンスルホン酸である、請求項24に記載の方法。

【請求項26】生じた任意の呈色の強度は、少なくとも1つの基準色との比較によって定量的に測定される、請求項24又は25に記載の方法。

【請求項27】 アレルゲンレベルを示すために家庭の環境において使用されるキット装置であって、

塵埃サンプルからタンパク質及びペプチドの少なくとも1つの分解成分を抽出するための界面活性剤を含む第1チャンバと、

比色定量アミン検出試薬を含む第2チャンバと、

抽出物を含有する界面活性剤と比色定量アミン検出試薬との反応により生じる任意の呈色の強度を定量的に測定する手段と、

定量測定に基づいて塵埃サンプル中のアレルゲン活性の相対的レベルを示す指示手段と、を備えたキット装置。

【請求項28】 比色定量アミン検出試薬との反応前に界面活性剤から塵埃サンプル固形残留物をろ過するためのフィルタをさらに備えた、請求項27に記載のキット装置。

【請求項29】 2つのチャンバのうちの1つは、他方のチャンバの収容する能力を有している、請求項27又は28に記載のキット装置。

【請求項30】 第2チャンバは、比色定量アミン検出装置と界面活性剤を保持する能力を有している、請求項29に記載のキット装置。

【請求項31】 定量測定手段は、少なくとも1つの色基準を含み、前記色基準と溶液の色が比較され得る、請求項27乃至30のいずれか一項に記載のキット装置。

【請求項32】 前記指示手段は、測定された任意の呈色の強度と関連付けられる、請求項27乃至30のいずれか一項に記載のキット装置。

【請求項33】 抽出物を含有する界面活性剤と比色定量アミン検出試薬との間の反応を制限する停止試薬を含む第3チャンバをさらに備えた、請求項27乃至32のいずれか一項に記載のキット装置。

【請求項34】 比色定量アミン検出試薬は、2, 4, 6-トリニトロベンゼンスルホン酸である、請求項27乃至33のいずれか一項に記載のキット装置。

【請求項35】 塵埃サンプル中のアレルゲンレベルを測定するために使用される装置であって、該装置はプロテアーゼ基質を備え、前記プロテアーゼ基質の上には色原体物質で標識されたタンパク質又はペプチドが固定されており、それ

によって、色原体物質で標識された可動な分解成分を生成するように、塵埃中の任意のプロテアーゼが前記固定化タンパク質又はペプチドに作用し得る、装置。

【請求項36】色原体物質で標識されたタンパク質がアゾアルブミンである、請求項35に記載の装置。

【発明の詳細な説明】**【0001】****(発明の技術分野)**

本発明は、アレルゲンの検出に関し、より詳細には、塵埃サンプル中のアレルゲンレベルを示すための方法及び装置に関する。

【0002】**(背景技術)**

入射太陽光により照射され家庭の環境において肉眼で見える塵埃粒子の80%までが皮膚に由来すると推測されている。暖かい環境では、ダストダニが皮膚に由来する塵埃粒子を常食にしており、自身の消化器系でプロテアーゼを使用することによりそれを分解する。そのようなプロテアーゼは、ダストダニの糞便中には有意なレベルで見出され、ハウスダストへのアレルギー反応を有する傾向がある個体に対するアレルゲンとしての役割をする排出プロテアーゼであることが現在確認されている。排出プロテアーゼの濃度は、カーペット、寝具、枕及びマットレスにおいて比較的高いレベルで見つまっている。それらの家具はすべて、ダストダニが成長するのに適した環境を提供する。

【0003】

ダストダニは、ハウスダストに見出される唯一のプロテアーゼ源ではない。例えば、ゴキブリ由来のプロテアーゼも、アレルゲンの源でもある。更に、ネコ唾液由来のプロテアーゼは、例えば猫の毛にくっついて乾燥すると、空気中で運ばれる可能性があり、そのようなプロテアーゼも、ハウスダストアレルギーを有する個体に対するアレルゲンとして作用する可能性がある。

【0004】

ハウスダストダニアレルゲンのレベルを定量的に測定するためのハウスダストの試験が知られている。ある特許である米国特許第4,806,490号によれば、ダストダニによって排出されたグアニン等の芳香族化合物を溶解又は浸出させるために、塵埃サンプルを、水性アルコールアルカリ金属水酸化物溶液に懸濁し、得られた溶液を芳香族ジアゾ化合物と混合する。溶液中の芳香族ジアゾ化合物と特定の排出された芳香族化合物との間の反応によって色の変化が生じ、その

新たな色の強度がハウスダスト中の排出プロテアーゼのレベルを示す。

【0005】

(発明の開示)

本発明の第1態様によれば、塵埃サンプルを提供する工程と；塵埃サンプルからタンパク質又はペプチドの少なくとも1つの分解成分を抽出する工程と；抽出された少なくとも1つの分解成分を比色定量アミン検出試薬と反応させる工程と；生じた任意の呈色の強度を測定又は定量的に測定する工程であって、アレルギー活性は呈色の強度と比例している工程と；から成る、塵埃中のアレルギー活性を測定する測定が提供される。

【0006】

本願出願人は、ダストダニがプロテアーゼに加えて、アミン化合物、アミノ酸、及び比較的小さなチェーンペプチド（例えばグリシルグリシン）を始めとする皮膚分解の副産物を排出することを認識した。本発明の目的は、一部では、1つの特定の化合物（例えばグアニン）又は複数の化合物種（例えば芳香族化合物）を標的とするのではなく、より豊富に存在し、且つ化学的にあまり複雑ではないこともある、アレルギー濃度の指標を与える副産物の一部を検出することである。これによって、例えばアレルギー反応を引き起こす環境の傾向を確立するために、特定の環境（例えば家庭の環境における個々の部屋）について試験することができる。

【0007】

該方法はさらに、塵埃サンプルをプロテアーゼ基質に曝す工程を含み得る。該プロテアーゼ基質の上にはタンパク質又はペプチドが固定され、塵埃サンプル中のプロテアーゼは該タンパク質又はペプチドに対して作用する。プロテアーゼ基質は、マトリクス又は膜等の物理的支持体から構成され得る。従って、このように、タンパク質又はペプチドの分解成分は、*in situ*で少なくとも一部が生成される。これは、そのような成分の濃度を増加させ、従って後の定量的呈色強度測定を改良するのに役立ち得る。この技術を使用する場合、プロテアーゼ基質への塵埃サンプルの暴露時間は制御する必要がある場合がある（例えば15分に設定）。そのようなプロセスではアレルギーが有効に直接測定されていること

に留意する。

【0008】

該方法はさらに、特定のプロテアーゼの活性を抑えるためにプロテアーゼ基質への暴露に先立って塵埃サンプルにプロテアーゼ阻害剤を加える工程を含み得る。特定の状況では、ダストダニプロテアーゼと別のプロテアーゼ（例えばゴキブリ由来のプロテアーゼ）を識別することが必要となる可能性がある。その理由は、一方に対して他方に対するよりも個体のアレルギー性が高い可能性があるためである。塵埃サンプルの中にあるプロテアーゼの種類間の区別は、存在し得る特定のプロテアーゼを特異的に阻害することにより達成することが可能である。例えば、特にセリンプロテアーゼを阻害するためには、セリンプロテアーゼ阻害剤が使用され得る。セリンプロテアーゼ阻害剤は有機リン酸エステル（例えばフッ化リン酸ジイソプロピル）、フッ化スルホン酸（例えばフェニルメチルフッ化スルホン酸）、クマリン（例えば3, 4-ジクロロイソクマリン）、及びペプチド/タンパク質阻害剤（例えばそれぞれペプチドボロン酸とアプロチニン）から成る群より選択され得る。セリンプロテアーゼ阻害剤の使用により、ダストダニアレルゲン（例えばシステインプロテアーゼ）はより容易に検出可能になるだろう。他方、ダストダニアレルゲンが試験から除外される場合には、システインプロテアーゼ阻害剤を使用し得る。システインプロテアーゼ阻害剤は、ペプチドジアゾメタン（例えば $z\text{-Phe-Ala-CHN}_2$ ）、及びペプチドエポキシド（例えばE-64とその誘導体）、シスタチンから成る群より選択され得る。

【0009】

該方法の1つの実施形態では、プロテアーゼ基質がプロテアーゼ特異的であり、基質上に固定されたタンパク質又はペプチドには特定のプロテアーゼのみが作用し得る。このように、プロテアーゼ基質は、塵埃サンプルの中に存在し得る特定のプロテアーゼを標的とするために選択され得る。そのような特定のプロテアーゼがサンプルの中にある場合、基質上に固定された特定のタンパク質又はペプチドは、後の検出のために分解される。他方、特定のプロテアーゼが不在の場合、タンパク質又はペプチドはインタクトに（そのまま）基質上に固定された状態に保たれる。

【0010】

プロテアーゼ基質は、プロテアーゼ基質上に固定されたタンパク質又はペプチドの可動な分解成分の抽出を促進するためのフィルタを備え得る。フィルタは、場合によっては、該フィルタを通過するプロテアーゼの通行に対するバリアの役割さえ果たす。塵埃サンプルから抽出される分解成分には、塵埃サンプルからの又はプロテアーゼ基質からの、アミン、アミノ酸又はペプチドが包含され得る。

【0011】

比色定量アミン検出試薬は、2, 4, 6-トリニトロベンゼンスルホン酸（以下、TNBSAとする）であり得る。

【0012】

該少なくとも1つの分解成分は、塵埃サンプルを界面活性剤と接触させることにより抽出され得る。いかなる塵埃サンプル固形残留物も、比色定量アミン検出試薬との反応に先立って、界面活性剤から分離することが可能である。界面活性剤は、硫酸ドデシルナトリウム（約5重量%の量で存在し得る）を含む水溶液であり得る。該水溶液は、アルカリであってもよいし、炭酸水素ナトリウムをさらに含んでもよい。塵埃サンプル固形残留物は、濾過により分離し得る。固形残留物の除去により、溶液中の不透明物質の量が減少し、任意の呈色強度の正確な測定が促進される。

【0013】

生じた任意の呈色の強度は、少なくとも1つの基準色との比較によって定量的に測定され得る。その比較は、色のスペクトル又は到達可能な色相範囲から各々が選択された複数の異なる色基準との比較であり得る。異なる色基準は、低い、中程度、及び高い活性のような巨視的等級に対応する、少なくとも3つの異なる種類のアレルゲン活性を示すために選択され得る。

【0014】

反応混合物は、予め選択したインキュベーション又は休止時間（例えば約2分）の後で停止試薬（例えば塩酸）を使用することにより、保存され得る。

再現可能な結果を与えるために、塵埃サンプルは、（例えば重量又は体積に関して）予め決定したサイズを有し得る。塵埃サンプルは、予め決定した面積又は

時間にわたって、吸引装置により収集され得る。該方法は巨視的汚染試験を表わすため、塵埃サンプルサイズの変化は許容され得る。従って、塵埃サンプルの正確な測定は必須というわけではない。

【0015】

発明の第2態様によれば、塵埃サンプルを提供する工程と；プロテアーゼ基質を提供する工程であって、該プロテアーゼ基質の上には色原体物質で標識されたタンパク質又はペプチドが固定されている工程と；塵埃サンプル中の任意のプロテアーゼが固定化タンパク質又はペプチドに作用して色原体物質で標識された可動な分解成分を生成する条件下で、プロテアーゼ基質を塵埃サンプルに暴露する工程と；生じた任意の呈色の強度を定量的に測定する工程であって、アレルゲン活性は呈色の強度と比例している工程と；から成る、塵埃中のアレルゲン活性を測定する方法が提供される。

【0016】

該方法はさらに、特定のプロテアーゼの活性を抑えるためにプロテアーゼ基質への暴露に先立って塵埃サンプルにプロテアーゼ阻害剤を加える工程を含み得る。先に述べたように、これにより特定のプロテアーゼが試験に積極的に関わるようになることが排除され、他のプロテアーゼ（恐らくより低い濃度で存在している）が評価可能となる。例えば、ダストダニ由来のプロテアーゼアレルゲン以外のプロテアーゼアレルゲンを評価することになっている場合、該阻害剤はシステインプロテアーゼ阻害剤であり得る。

【0017】

本発明の別の実施形態では、プロテアーゼ基質がプロテアーゼ特異的であり、特定のプロテアーゼのみが基質上に固定されたタンパク質又はペプチドに作用し得る。このように、様々な種類のプロテアーゼが塵埃サンプル中に存在していても特定のプロテアーゼを評価するように、試験をあつらえることが可能である。例えば、一方では（例えばゴキブリ由来の）金属プロテアーゼとアスパラギン酸プロテアーゼとを区別し、他方では（例えばダストダニ由来の）セリンプロテアーゼとシステインプロテアーゼとを区別するために、4-ニトロアニリンと2-ナフチルアミン（発色団）を有する合成基質を使用することが可能である。

【0018】

プロテアーゼ基質は、色原体物質で標識された可動な分解成分の抽出を促進するためのフィルタを備え得る。該フィルタは、色原体物質で標識された可動な分解成分よりも大きいすべての分子に対するバリアの役割を果たし得る。

【0019】

色原体物質で標識されたタンパク質の例は、アゾアルブミンである。適当なプロテアーゼと反応させると、アゾ染料が遊離する。

【0020】

本発明の第3態様によれば、塵埃サンプルを提供する工程と；塵埃サンプルから、脂肪族アミン及び脂肪族アミノ酸から成る群より選択された少なくとも1つの成分を抽出する工程と；抽出された少なくとも1つの成分の相対濃度を測定する工程と；測定した相対濃度に依存してアレルギー活性の指標を提供する工程と；から成る、塵埃中のアレルギー活性を測定する方法が提供される。

【0021】

相対濃度は、脂肪族アミンと脂肪族アミノ酸に感受性のある呈色指示薬の使用により測定し得る。呈色指示薬はTNBSAであり得る。

塵埃サンプル中に存在する皮膚分解の任意の副産物（特に脂肪族アミンと脂肪族アミノ酸）が、ダストダニ活性に関連づけられ得る。塵埃サンプル中の副産物のレベルが高いほど、ダストダニ活性は高いものと仮定され得る。ダストダニ活性のレベルが高いと、それに対応して特定個体におけるハウスダストに対するアレルギー反応を与える主な原因であるアレルギーである多量のプロテアーゼが生産される。

【0022】

本発明の第4態様によれば、塵埃サンプルを提供する工程と；ヒト皮膚細胞のタンパク質又はペプチドを分解可能なプロテアーゼに、塵埃サンプルを暴露する工程と；比色定量アミン検出試薬と暴露した塵埃サンプルを反応させる工程と；生じた任意の呈色の強度を定量的に測定する工程であって、アレルギー活性は呈色の強度と比例している工程と；から成る、塵埃中のアレルギー生成傾向を測定する方法が提供される。

【0023】

アレルゲンレベルが有意な検出可能なレベルまで増加する前でも塵埃サンプルが高レベルのダストダニ活性を維持し得るかどうかを確かめるために、塵埃サンプルを評価したい場合がある。塵埃サンプルが比較的高レベルのヒト皮膚細胞を含んでいる場合、供給されたプロテアーゼは、試薬と反応するため色による評価で検出される、分解成分を生成する。比較的高レベルのヒト皮膚細胞を含んでいることで、サンプルを採取した塵埃は、理論上、高濃度のダストダニを維持し得る。そのような情報は、塵埃ダニプロテアーゼに対してアレルギー性の人にとっての有用な警告であり得る。

【0024】

比色定量アミン検出試薬は2, 4, 6-トリニトロベンゼンスルホン酸であり得る。生じた任意の呈色の強度は、少なくとも1つの基準色との比較によって定量的に測定され得る。

【0025】

本発明の別の態様によれば、指標となるアレルゲンレベルを測定するために家庭の環境において使用される装置が提供される。該装置は、塵埃サンプルからタンパク質及びペプチドの少なくとも1つの分解成分を抽出するための界面活性剤を含む第1チャンバと；比色定量アミン検出試薬を含む第2チャンバと；抽出物を含む界面活性剤と比色定量アミン検出試薬との反応により生じる任意の呈色の強度を定量的に測定する手段と；定量測定に基づいて塵埃サンプル中のアレルゲン活性の相対的レベルを示す指示手段とを備えたキットから構成され得る。

【0026】

該装置は、比色定量アミン検出試薬（TNBSAであり得る）との反応前に界面活性剤から塵埃サンプル固形残留物をろ過するためのフィルタをさらに備え得る。2つのチャンバのうちの1つは、他方のチャンバを収容する能力を有し得る。好ましくは、第2チャンバは、比色定量アミン検出装置と界面活性剤を保持する能力を有している。

【0027】

定量測定手段は、少なくとも1つの色基準含み、該色基準と溶液の色が比較さ

れ得る。該指示手段は、測定された任意の呈色の強度と関連付けられた、例えば、低い、中程度、及び高い活性のような等級を有しうる。例えば、溶液の色が色基準とはほぼ同じであるとして目で確認される場合、これは中程度のアレルゲン活性に相当し得る。色基準のいずれかの側へのずれも、適切に低いか又は高い活性に対応し得る。

【0028】

装置はさらに、抽出物を含有する界面活性剤と比色定量アミン検出試薬（例えばTNBSA）との間の反応を制限する停止試薬を含む第3チャンバを備え得る。

【0029】

(発明を実施する態様)

本発明の実施形態を、添付の図面を参照しながら説明する。

図1の装置10は、5重量%の硫酸ドデシルナトリウムを含む0.1M炭酸水素ナトリウム溶液の0.10リットルを第1チャンバ14に収容している上側部分12と、上側部分12及び残りの部分の両方とぴったり嵌まり合うが摺動する中央部分16と、TNBSAの錠剤と1.0M塩酸の停止試薬を収容している下側部分18とから成る3つの部分を有している。第1チャンバ14内の溶液は、破れやすいシール20によって上側部分12内に封止される。中央部分16は、フィルタ22を有し、フィルタ22の上には塵埃サンプルを受け取るカップ24が設けられている。中央部分16は、破れやすいシール20の破壊を促進するよう先をとがらせた先端外形26を有している。第2チャンバ27は中間部分と下側部分により形成される。下側部分18は、TNBSAの錠剤と、第3チャンバ29内に封止された停止試薬との間に配置された破れやすいシール28を有している。

【0030】

ここで、装置10の使用方法を、図2を参照しながら段階的に説明する。

段階1 予め決定したサイズの塵埃サンプルを、カップ24に配置する。

段階2 外形26がシール20を破るように、中央部分16を上側部分12に挿入する。

段階3 第1チャンバ内の溶液が塵埃サンプルと接触する。塵埃サンプル中に存在するアミン、アミノ酸、及びペプチドを始めとする任意の化学物質が抽出され、フィルタ22を通過し、第2チャンバに入り、そこでTNBSAの錠剤と接触する。

【0031】

段階4 約2分後、中央部分16を下側部分18に十分に深く押し込んでシール28を破り、第3チャンバ29内の停止試薬により、さらなる反応を防止する。生じた溶液の色を、塵埃サンプル中のダストダニ活性のレベル（例えば低、中、又は高）の指標を与えるよう等級を付けた色分類と比較する。

【0032】

実施例

古いマットレス（ダストダニ活性が高いと予想される）から塵埃サンプルを集め、ブランクサンプルと濃度を変えた（20～200 μ g）グリシルグリシンの試験サンプルをコントロールとして使用した。塵埃サンプル、ブランクサンプル、及び試験サンプルを、0.1M NaHCO₃、0.5M NaCl（pH 8.3）で洗浄し、種々の濃度（例えば10に対して1部、50に対して1部、及び100に対して1部を希釈）のTNBSAを用いて試験した。50に対して1部の希釈液が、感度とブランク色に関して最適の希釈液であることがわかった。そのような希釈液を使用し、実験により、ダストサンプルとすべての試験サンプルの両方について視覚できる結果が得られたが、ブランクサンプルについては得られなかった。その後、その視覚できる結果を評価かつ比較して、古いマットレス中のダストダニ活性の指標を与えた。

【0033】

実施例で使用した方法を、図3を参照しながら要約かつ発展させ得る。例えば家具やカーペットから塵埃を集める吸引装置の使用により、塵埃サンプルを、ステップ50で提供する。特定のプロテアーゼ（例えばシステインプロテアーゼ）を目標とすることを可能にするために、プロテアーゼ阻害剤（例えばセリンプロテアーゼ阻害剤）をステップ52で加える。次に、ステップ54で、塵埃サンプルを、存在するプロテアーゼに対して感受性を有するプロテアーゼ基質に暴露し